

**Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen
an Muskelzysten von *Sarcocystis suicanis*
aus experimentell infizierten Schweinen**

Michael Katz

1970

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie des Fachbereiches Tiermedizin
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. J. Boch

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen
an Muskelzysten von *Sarcocystis suicanis* aus experi-
mentell infizierten Schweinen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereiches Tiermedizin der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Michael Katz
aus
Stuttgart

München 1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Tiermedizin
der Universität München

Dekan : Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent : Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch
Korreferent : Prof. Dr. D. Stavrou



Tag der Promotion : 24. Februar 1978

DISSERTATIONS— UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

I.	Einleitung	1
II.	Einleitung und Überblick über die verschiedenen Arten der Kunst- und Kulturgeschichte	2
III.	Einleitung	3
IV.	Einleitung	4
V.	Einleitung	5
VI.	Einleitung	6
VII.	Einleitung	7
VIII.	Einleitung	8
IX.	Einleitung	9
X.	Einleitung	10
XI.	Einleitung	11
XII.	Einleitung	12
XIII.	Einleitung	13
XIV.	Einleitung	14
XV.	Einleitung	15
XVI.	Einleitung	16
XVII.	Einleitung	17
XVIII.	Einleitung	18
XIX.	Einleitung	19
XX.	Einleitung	20
XXI.	Einleitung	21
XXII.	Einleitung	22
XXIII.	Einleitung	23
XXIV.	Einleitung	24
XXV.	Einleitung	25
XXVI.	Einleitung	26
XXVII.	Einleitung	27
XXVIII.	Einleitung	28
XXIX.	Einleitung	29
XXX.	Einleitung	30
XXXI.	Einleitung	31
XXXII.	Einleitung	32
XXXIII.	Einleitung	33
XXXIV.	Einleitung	34
XXXV.	Einleitung	35
XXXVI.	Einleitung	36
XXXVII.	Einleitung	37
XXXVIII.	Einleitung	38
XXXIX.	Einleitung	39
XL.	Einleitung	40
XLI.	Einleitung	41
XLII.	Einleitung	42
XLIII.	Einleitung	43
XLIV.	Einleitung	44
XLV.	Einleitung	45
XLVI.	Einleitung	46
XLVII.	Einleitung	47
XLVIII.	Einleitung	48
XLIX.	Einleitung	49
L.	Einleitung	50
LI.	Einleitung	51
LII.	Einleitung	52
LIII.	Einleitung	53
LIV.	Einleitung	54
LV.	Einleitung	55
LVI.	Einleitung	56
LVII.	Einleitung	57
LVIII.	Einleitung	58
LIX.	Einleitung	59
XL.	Einleitung	60
LI.	Einleitung	61
LII.	Einleitung	62
LIII.	Einleitung	63
LIV.	Einleitung	64
LV.	Einleitung	65
LVI.	Einleitung	66
LVII.	Einleitung	67
LVIII.	Einleitung	68
LIX.	Einleitung	69
XL.	Einleitung	70
LI.	Einleitung	71
LII.	Einleitung	72
LIII.	Einleitung	73
LIV.	Einleitung	74
LV.	Einleitung	75
LVI.	Einleitung	76
LVII.	Einleitung	77
LVIII.	Einleitung	78
LIX.	Einleitung	79
XL.	Einleitung	80
LI.	Einleitung	81
LII.	Einleitung	82
LIII.	Einleitung	83
LIV.	Einleitung	84
LV.	Einleitung	85
LVI.	Einleitung	86
LVII.	Einleitung	87
LVIII.	Einleitung	88
LIX.	Einleitung	89
XL.	Einleitung	90
LI.	Einleitung	91
LII.	Einleitung	92
LIII.	Einleitung	93
LIV.	Einleitung	94
LV.	Einleitung	95
LVI.	Einleitung	96
LVII.	Einleitung	97
LVIII.	Einleitung	98
LIX.	Einleitung	99
XL.	Einleitung	100

I.	Einleitung	1
II.	Biologie und Ultrastruktur von Sarkosporidien einiger Haus- und Wildtiere (Literaturübersicht)	2
	A. Biologie	2
	B. Ultrastruktur	4
III.	Eigene Untersuchungen	11
	A. Material und Methoden	11
	B. Ergebnisse	13
	1) Lichtmikroskopische Untersuchungen	13
	2) Elektronenmikroskopische Untersuchungen	16
	a) Zystenwand	17
	b) Zystenstadien	22
	1) Metrozyten	22
	2) Merozoiten	25
IV.	Besprechung der Ergebnisse	30
V.	Zusammenfassung	39
	Summary	40
VI.	Literaturverzeichnis	41
	Lebenslauf	

I. Einleitung

Experimentelle Sarkosporidieninfektionen stellen eine geeignete Möglichkeit zur Aufklärung des Lebenszyklus dieser Parasiten dar. Durch Ermittlung der Endwirte ist auf diesem Wege auch eine gewisse Speziesdifferenzierung möglich, die jedoch bei gleichen Endwirten versagen muß.

Als weitere bessere Möglichkeit zur Artendifferenzierung der Zystenbildenden Kokzidien erwies sich die elektronenoptische Untersuchung der Zysten im Zwischenwirt. Hierzu können vor allem die feinstrukturellen Unterschiede im Aufbau der Zystenwand als ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal herangezogen werden. Derartige Untersuchungen bei Rind und Schaf nach experimenteller Infektion mit dem vom Endwirt ausgeschiedenen Oozysten und Sporozysten bestätigten und ergänzten die Untersuchungsergebnisse über den Lebenszyklus.

Der bisher in der Literatur beschriebene Zystenwandaufbau der Muskelzyste beim Hausschwein hat neben den Untersuchungen von MEHLHORN u. HEYDORN (1977) an *S. suis* nur spontaninfizierte Tiere zur Grundlage, so daß bisher keine exakte Aussage über die Spezieszugehörigkeit gemacht werden kann.

In der vorliegenden Arbeit sollen Zystenwand und Zystozoen (Metro- und Merozoiten) nach experimenteller Infektion von Hausschweinen näher untersucht werden mit dem Ziel, die genaue morphologische Charakterisierung der Sarkosporidienart Schweinhund (*Sarcocystis suicanis*, ERBER 1977), die Entstehung der Zyste und die Wirt-Parasit-Beziehung anhand von Zeitversuchen darzustellen.

II. Biologie und Ultrastruktur von Sarkosporidien einiger Haus- und Wildtiere (Literaturübersicht)

A. Biologie

Seit der Entdeckung der Sarkosporidien in der Skelettmuskulatur der Hausmaus durch MIESCHER (1843) hat es nicht an Forschungsarbeiten über Vorkommen, Pathogenität und Lebenszyklus dieser Parasiten gefehlt. Trotz intensiver Bemühungen blieben die Kenntnisse der Entwicklung und Übertragungsweise lange unbekannt.

Ein entscheidender Schritt gelang durch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von LUDVIK (1956, 1958, 1960) an *Sarcocystis tenella* und *Sarcocystis miescheriana*, von SIMPSON (1966) an *Sarcocystis fusiformis* und von ZEVE, PRICE und HERMAN (1966) an *Sarcocystis* sp. eines Stares (*Quiscalus quiscula*). Die Autoren weisen auf eine weitgehende Übereinstimmung der Feinstruktur der Entwicklungsstadien von Sarkosporidien mit denjenigen von *Toxoplasma* hin. SENAUD (1966) beobachtete bei *Sarcocystis tenella* als ungeschlechtliche Vermehrungsart die Endodyogenie, die GAVIN, WANKO und JACOBS (1962) sowie VAN DER ZYPEN und PIEKARSKI (1967) für *Toxoplasma* beschreiben.

Einen weiteren wichtigen Fortschritt erbrachten die Untersuchungen durch FAYER (1970, 1972). Er beobachtete die geschlechtliche Entwicklung (Gamogonie) von Starsarkosporidien bis hin zur Oozysten- und Sporozystenbildung in verschiedenen embryonalen Zellkulturen von Säugern und Vögeln nach Infektion mit motilen Zystenstadien aus der Starmuskulatur. Auf Grund dieser Ergebnisse ordnete er die Sarkosporidien den Kokzidien zu.

Erstmals gelang es ROMMEL, HEYDORN und GRUBER (1972) nach Verfütterung von makroskopisch sichtbaren Muskelzysten von *Sarcocystis tenella* des Schafes an Katzen in deren Kot Sporozysten nachzuweisen und damit die Katze als Endwirt zu ermitteln. Sie

stellten fest, daß diese Ausscheidungsformen mit den bei der Katze als *Isospora bigemina* var. *cati* bezeichneten Sporozysten übereinstimmen. Eine Patenz von bis zu 53 Tagen sowie die Ausscheidung sporulierter Oozysten, meist sogar von Sporozysten, ist für die Gattung *Isospora* ungewöhnlich. Beispielsweise ermittelte SHAH (1971) eine Patenz von 11 Tagen, MAHRT (1967) für *Isospora rivolta* von 19 Tagen; darüberhinaus scheiden mit Kokzidien befallene Tiere nur unsporulierte Oozysten aus. Deshalb sahen ROMMEL, HEYDORN und GRUBER (1972) die von den experimentell infizierten Katzen ausgeschiedenen Sporozysten als Entwicklungsstadien von Sarkosporidien an. Für die beim Schaf vorkommende, nur mikroskopisch nachweisbare Form erwies sich der Hund (ROMMEL und Mitarb. 1974) als Endwirt.

Für drei verschiedene Sarkosporidienarten des Rindes (früher als *Sarcocystis fusiformis* bezeichnet) wurden experimentell Hund, Fuchs und Wolf bzw. Katze (HEYDORN und ROMMEL 1972 a; ROMMEL und Mitarb. 1974) und der Mensch (ROMMEL und HEYDORN, 1972, 1974) als spezifische Endwirte ermittelt. Untersuchungen zur Artendifferenzierung bei Rind und Schaf wurden von GESTRICH, HEYDORN und BAYSU (1975) fortgeführt.

Für zwei Schweinesarkosporidienarten (bisher als *Sarcocystis miescheriana* bezeichnet) wurden Hund bzw. der Mensch als Endwirte ermittelt (ROMMEL und HEYDORN 1972, ROMMEL und Mitarb. 1974). Einzelheiten der endogenen Entwicklung der Sarkosporidien im Endwirt beschrieben HEYDORN und ROMMEL (1972 b) bei der Katze und FAYER (1974) beim Hund. Die Entwicklungsstadien haben ihren Sitz subepithelial in der Lamina propria mucosae von Duodenum und Jejunum. Die Zystozoitien wandeln sich direkt zu Mikro- und Makrogamonten um, aus denen sich nach Vereinigung ihrer motilen Stadien (Mikro- und Makrogameten) die Oozysten entwickeln; diese sporulieren bereits in der Darmwand, die Sporozysten werden mit den Faeces ausgeschieden.

FISCHLE (1973) konnte in entsprechenden Fütterungsversuchen beweisen, daß für die Entwicklung der Sarkosporidien ein Zwischenwirt obligat ist.

Die Aufklärung der Kokzidiennatur der Sarkosporidien und der obligate Wirtswechsel ermöglichte erst eine gezielte Untersuchung ihrer Entwicklung im Zwischenwirt. FAYER und JOHNSON (1973, 1974) stellten nach experimenteller Infektion von Kälbern am 20. Tag p.i. Schizonten in den Mesenteriallymphknoten, zwischen dem 20. und 33. Tag p.i. unreife Schizonten subepithelial im Dünndarm und in zahlreichen anderen Organen sowie reife Schizonten in Lymphknoten, Jejunum und vorwiegend in den Glomerula der Nieren fest. Ab dem 40. Tag p.i. fanden sie Zysten in Zwerchfell, Oesophagus, Herz, Zunge und in der Skelettmuskulatur. Ähnliche Befunde erbrachten GESTRICH, HEYDORN und BAYSU (1975) bei Rind und Schaf sowie MUNDAY, BARKER und RICHARD (1975) und HEYDORN und GESTRICH (1976) bei Schafen.

Die Zystenentwicklung im Zwischenwirt läuft bei allen Tieren von zeitlichen Differenzen abgesehen gleich ab. So finden sich in noch sehr jungen Zysten, mit einer lichtmikroskopisch kaum sichtbaren Zystenwand, ausschließlich teilungsaktive Metrozyten. Mit zunehmendem Alter der Zyste differenziert sich, für die einzelne Art typisch, die Zystenwand aus; im Zysteninneren ist eine immer größer werdende Anzahl von bananenförmigen Merozoiten festzustellen (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH 1975 a).

B. Ultrastruktur

Durch Infektion mit ausgeschiedenen Sporozysten der Endwirte wird in den Zwischenwirten die Bildung von Muskelzysten induziert. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Muskelzysten unter-

mauern die bisherigen Kenntnisse über die Sarkosporidien und erbringen weitere wichtige Unterscheidungsmerkmale für die bei Haustieren vorkommenden Arten.

Nach Verzehr von rohem Rindfleisch schieden Versuchspersonen Sporozysten von *Sarcocystis bovi-hominis* aus, mit denen mehrere Kälber oral infiziert wurden (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH 1975 c). Um die Zystenentwicklung verfolgen zu können, wurden die Tiere an verschiedenen Tagen p.i. getötet. Die Zystenbildung setzte etwa am 40. Tag p.i. ein. Die Zyste selbst liegt in einer Muskelzelle und entwickelt sich aus einer parasitophoren Vakuole, deren Begrenzungsmembran die Untersucher als Primärhülle bezeichnen. Im Laufe des Zystenwachstums kommt es zu einer Oberflächenvergrößerung durch Auffaltung dieser Primärhülle, die sich bei weiterem Alterungsprozeß der Zyste nochmals in sich selbst auffaltet. Hierdurch wurden die ursprünglichen palisadenartigen, bis zu 7 μ m langen Vorwölbungen unregelmäßig. Die Palisaden enthalten zahlreiche fibrilläre Elemente, die im Zentrum liegen, durch Querverbindungen untereinander in Kontakt stehen und von der Spitze der Vorwölbungen bis in die Zystengrundsubstanz reichen. Diese unter der Primärhülle liegende Schicht bildet schmale Ausläufer zum Zysteninneren aus. In den dadurch gebildeten Kammern liegen Metrozyten und Merozoiten. Im Verlauf der Entwicklung wird die Muskelzelle von der "dickwandigen" Zyste allmählich aufgebraucht. Sie bleibt aber als solche erkennbar. Eine Reaktion seitens der Wirtszelle durch Bildung einer sogenannten Sekundärhülle erfolgt nicht.

In Fortführung dieser Arbeit untersuchten HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975 a) die Feinstruktur der im Zysteninneren vorzufindenden Metrozyten und Merozoiten. Die Metrozyten erweisen sich als ovoide Zellen, die von einer typischen Sporozoenpellekula begrenzt sind. Diese besteht aus drei Elementarmembranen, wobei die beiden inneren Membranen sehr eng beieinander zu lie-

gen kommen. Das Kernchromatin setzt sich aus großen, häufig randständigen, osmiophilen Bereichen und aus kleinen, kugeligen Grana zusammen. Vor dem Nukleus liegt ein Golgi-Apparat. Ebenso besitzen die Metrozyten ein Conoid und 22 subpellikuläre Mikrotubuli. Rhoptrien und Mikronemen sind sehr spärlich vorhanden. Zahlreiche Mikroporen können beobachtet werden. Die Merozoiten zeigen eine etwas gedrungene, bananenförmige Gestalt und sind ebenfalls von einer typischen Pellikula begrenzt. 22 subpellikuläre Mikrotubuli ziehen vom vorderen Polring in spiraligen Windungen bis zum hinteren Polring hin. Am apikalen Pol befindet sich ein Conoid, das aus 7-8 spiralig angeordneten Mikrotubuli aufgebaut ist. Im vorderen Zellabschnitt sind meist 6-8 Rhoptrien anzutreffen. Die Mitochondrien sind vom tubulären Typ.

Bei *Sarcocystis bovicanis*, einer weiteren beim Rind vorkommenden Art, erreichen die Vorwölbungen nur eine Länge von 3 μm , legen sich bei reifen Zysten der Zystenoberfläche eng an und enthalten keine fibrillären Elemente. Im Lichtmikroskop erscheint die Zyste "dünnwandig" (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH, 1975 b). Die Feinstruktur der Zystenstadien entspricht im Grundaufbau derjenigen anderer Sarkosporidienarten. Die Merozoiten lassen eine deutliche Zonierung in drei Zellabschnitte erkennen, wobei im vorderen Zelldrittel Mikronemen, Polring mit Conoid und einmündenden Ausführungsgängen der Rhoptrien sowie ein Zytostom, im mittleren Abschnitt Ribosomen, Polysaccharidgrana und Rhoptrien und im hinteren Zellteil Nukleus und Golgi-Apparat aufzufinden sind (HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH, 1975 b).

Sarcocystis bovifelis läßt sich ebenfalls durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von den beiden anderen Arten abgrenzen. Die Vorwölbungen sind bis zu 5,5 μm lang, stehen palisadenartig und beinhalten fibrilläre, nicht miteinander verbundene Elemente, die auf Querschnitten den Eindruck von tubulären Strukturen vermitteln. Im Lichtmikroskop erscheint die Zystenwand "dickwandig" (GESTRICH, MEHLHORN und HEYDORN, 1975).

Weitere Untersuchungen über die Ultrastruktur der Muskelzysten beim Rind befassen sich ausschließlich mit spontaninfizierten Tieren. So differenzierten BERGMANN und KINDER (1975 a) mindestens zwei verschiedene Arten aufgrund des unterschiedlichen Zystenwandaufbaues. SIMPSON (1966) konnte nur eine Art bei seinen Untersuchungen finden, deren Merozoiten eine deutliche Dreiteilung ihres Zelleibes aufwiesen.

Über die beim Schaf vorkommenden Sarkosporidienarten liegen Untersuchungen von LUDVIK (1956, 1958) und HOLZ (1954) vor, die sich jedoch hauptsächlich mit der Morphologie der Zystenstadien befassen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Zystenwand an *S. tenella* des Schafes bestätigen die von ROMMEL und Mitarb. (1974) und GESTRICH, HEYDORN und BAYSU (1975) aufgrund von Fütterungsversuchen an Hunden und Katzen gefundenen Ergebnisse, daß sich hinter *S. tenella* zwei verschiedene Arten verbergen. *Sarcocystis ovicanis* weist aufrechtstehende, palisadenartige, bis zu 3,5 µm lange Vorwölbungen auf, die niemals fibrilläre Elemente enthalten (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH 1975 a; MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN 1976; BERGMANN und KINDER 1975 b). Die von *S. tenella* (= *S. ovifelis*) gebildeten Vorwölbungen stellen sich unregelmäßig zottig dar und erwecken so den Eindruck einer blumenkohlartigen Struktur. Im Inneren enthalten sie fibrilläre Elemente (SCHOLTYSECK, MEHLHORN und MÜLLER 1974; MEHLHORN und SCHOLTYSECK 1973).

Erste Untersuchungen zur Ultrastruktur von Sarkosporidienzysten in der Muskulatur des Hausschweines legt LUDVIK (1960) vor. Die untersuchten Muskelproben entnahm er bei der Trichinenschau von als sarkosporidienhaltig erkannten Schweinen. Bei der Beschreibung eines Merozoiten unterscheidet er drei morphologisch verschiedene Zonen: Das erste Drittel ist mit 300-500 osmiophilen Fibrillen -"Sarconeme"- ausgefüllt, die im Inneren des Conoids beginnen. Sie haben einen Durchmesser von 50 µm und sind reihenweise angeordnet. Außer einem Polring konnte er keine weiteren

Zellorganellen beobachten. Im mittleren Abschnitt befinden sich kleine metachromatische und große osmiophile Körnchen, die im Zentrum liegen. Die hintere Zone füllt ein großer, ovaler, von einer Doppelmembran begrenzter Kern aus, der kleine Chromatinkörnchen enthält, die vor allem an der Peripherie liegen. Um den Nukleus herum und im hinteren Teil dieses Abschnittes liegen zahlreiche kleine Vakuolen, deren Wand osmiophil erscheint. Einige Mitochondrien sind vorhanden. Umgeben ist der ganze Parasit von einer aus zwei Lagen bestehenden Pellikula.

Die Zystenwand zeigt eine interessante Oberflächenstruktur. Von ihr erstrecken sich in das umgebende Muskelgewebe lange, fingerähnlich und parallel stehende Vorwölbungen, die 0,7-0,8 μm breit und bis zu 10 μm lang sein können. Die in ihnen enthaltenen langen Doppelfibrillen haben eine Dicke von 100 $\text{\AA}$. Im Querschnitt zeigen die Vorwölbungen eine runde oder ovale Form. Die Hülle dieser Fortsätze ist nicht breiter als 100-150 $\text{\AA}$ und verdickt sich nur an deren Basis. Die Zystengrundsubstanz besteht aus granuliertem Zytoplasma, welches das ganze Zysteninnere mit feinen Septen durchzieht und so zahlreiche kleine Hohlräume entstehen läßt.

Eine weitere Untersuchung am Schwein wurde von BERGMANN und KINDER (1974) durchgeführt. Die Zystengrundsubstanz bezeichnen sie als innere Hüllschicht. Diese zeigt sich als homogen und enthält stark verflochtene feine Filamente. Zahlreiche von ihr ausgehende Septen teilen das Zysteninnere in mit Merozoiten gefüllte Kammern. Nach außen hin schließt sich eine kompakte äußere Hüllschicht an, die von fingerähnlichen, schlauchartigen Fortsätzen oder Zotten von etwa 0,35-0,5 μm Durchmesser gebildet wird. Diese Zotten entspringen radiär, verlaufen oft stark geschlängelt und enthalten etwa 20-30 nm breite Doppelfilamente, die der inneren Hüllschicht entspringen und in Längsrichtung der Zotten verlaufen. Die Anzahl der Doppelfilamente beträgt 20-45. Die Begrenzung dieser Hüllschicht bildet eine einfache dreischichtige Membran (= Elementarmembran) von etwa 12 nm Stärke, unterlagert von einer ca. 20 nm dicken osmiophilen

Schicht. Entlang der Zotten verläuft die Membran glatt und kontinuierlich, während sie an der Basis multiple Einbuchtungen zum Zysteninneren aufweist. Die Dichte des Zottenbesatzes sowie deren Länge variieren beträchtlich.

Auch über die bei den Wildschweinen vorkommenden Sarkosporidienzysten liegen ultrastrukturelle Untersuchungen vor. In der von MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) gefundenen Muskelzyste bildet die Primärhülle palisadenartige Vorwölbungen von 2,5 - 3,5 μm Länge aus. Diese weisen im Querschnitt eine polygonale Form auf mit einem Durchmesser von ca. 1,5 μm . Im Inneren der Vorwölbungen sind ca. 70 fibrilläre Mikrotubuli-ähnliche Strukturen unmittelbar unter der Primärhülle in einer einzigen Lage zu sehen. Die von der Zystengrundsubstanz gebildeten Septen durchziehen das Zysteninnere. Eine Sekundärhülle ist nicht vorhanden.

BERGMANN und KINDER (1976) fanden beim Wildschwein jedoch zwei Zystenarten. Die eine ist gekennzeichnet durch lange, unregelmäßig gelagerte, häufig verknäulte und verschlungene Zotten, die bis zu 0,5 μm breit sind und 20 bis 45 zarte Doppelfilamente enthalten. Die 12 nm starke Begrenzungsmembran der Zotten ist von einer 20 nm breiten, osmiophilen Schicht unterlagert. Bei der zweiten gefundenen Zystenart sind die Zotten eng aneinander. Unterhalb der Primärhülle oder im Zentrum der Zotten liegen bündelweise und abwechselnd dicke (17-20 nm) und dünne (5 nm) Mikrofilamente.

Kegelförmige, mit einem Basisdurchmesser von 1,75 μm , radiär und gestreckt verlaufende Zotten beobachteten die Autoren bei Sarkosporidienzysten des Rehes. Sie enthalten Granula und einfache oder doppelte, längsgerichtete Mikrofilamente, die eine Querstreifung besitzen. Die Primärhülle entlang der Zotten weist viele halbkugelige Einbuchtungen auf und wirtsseitig kleine Spikes. Sie ist von einer 40 nm dicken osmiophilen Schicht

unterlagert. Eine zweite Zyste, im Aufbau stark abweichend von der ersten, zeigt in größeren Abständen sehr kurze, stummelförmige Vorwölbungen der Primärhülle mit einer Breite bis zu $0,55 \mu\text{m}$. Die Zotten enthalten keine Mikrofilamente, die osmiophile Unterlagerung der Primärhülle ist 20 nm dick (BERGMANN und KINDER 1976).

GÜBEL (1976) untersuchte *Sarcocystis equicani* (= Zysten des Pferdes). Diese bilden $2-3 \mu\text{m}$ lange Ausstülpungen aus, die schräg zur Zystenoberfläche verlaufen. Die Primärhülle entlang der Vorwölbungen ist nochmals in sich aufgefaltet. $40-70$ Fibrillen füllen das Zentrum der Ausstülpungen aus.

Die in der Literaturübersicht aufgezeigten Bauprinzipien der Haustiersarkosporidien werden durch zahlreiche Untersuchungen an Wildtieren und Vögeln ergänzt und bestätigt (MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN 1976; KAN und DISSANAIKE 1976). Es zeigt sich, daß die Zystenwand als einziges geeignetes Instrument für eine Speziesdifferenzierung angesehen werden kann.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Mehrere Hunde als Endwirte wurden mit rohem, sarkosporidienhaltigem Schweinefleisch gefüttert. Nach etwa 10 bis 12 Tagen schieden sie Sporozysten mit dem Kot aus, die mit dem ZnCl_2NaCl -Flotationsverfahren angereichert und gewonnen wurden. Als Zwischenwirte wurden 6 Ferkel mit der Schlundsonde oral mit je 100 000 Sporozysten infiziert. Am 32., 47., 55., 64., 81. und 90. Tag p.i. wurde je ein Tier getötet und Proben aus der Rücken-, Unterzungen- und Zungenmuskulatur sowie dem Herzmuskel für die Licht- und Elektronenmikroskopie entnommen. Die auf eine Kantenlänge von 1 mm zerkleinerten Muskelstücke wurden in 2,5%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,2) für 6 Stunden bei 4°C fixiert. Nach viermaligem Auswaschen der Proben mit der Pufferlösung erfolgte eine Nachfixierung in 1%iger Osmiumtetroxid-Lösung über eine Stunde bei 4°C. An das mehrmalige erneute Auswaschen (4x) mit Cacodylatpuffer schloß sich die Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe an. Sie begann beim 50%igen Äthanol für 15 Minuten Dauer und wurde dann in den Stufen 70% und 90% für jeweils 30 Minuten bei einer Temperatur von 4°C fortgesetzt. In der 70%igen Entwässerungsstufe wurde mit 1%igem wässrigem Uranylacetat und 1%iger Phosphorwolframsäure am Block zwischenkontrastiert. Eine zweimalige Entwässerung mit absolutem Alkohol für jeweils 30 Minuten erfolgte bei Zimmertemperatur. Als Intermedium diente Propylenoxid für 2x15 Minuten. Als Einbettungsmittel wurde Durcupan ACM (Fluka) verwendet, das zunächst mit Propylenoxid im Verhältnis 2:1 für etwa eine Stunde und anschließend im Verhältnis 4:1 für 12 Stunden zusammen mit den zu untersuchenden Proben gemischt wurde. Im nächsten Schritt wurden die Proben zweimal mit reinem Durcupan ACM versetzt und für je eine Stunde bei 50°C im Brutschrank vorpolymerisiert. Dann erfolgte die Einbettung

der Proben in Gelatine-Kapseln mit konzentriertem Durcupan ACM. Diese polymerisierten bei 60°C für 48 Stunden im Brutschrank. Nach Lösen der Gelatine-Kapseln wurden die Blöckchen von Hand getrimmt. Die zunächst angefertigten 2-3 um dicken Semidünnschnitte färbten wir mit Tolluidinblau und prüften sie auf das Vorhandensein von Muskelzysten im Lichtmikroskop. Im positiven Fall wurden ca. 50 nm dicke Ultradünnschnitte auf einem Porter-Blum Microtome MT-I hergestellt. Als Objektträger für die Ultradünnschnitte dienten Formvar befilmte Kupfernetzchen ($\varnothing$ 2,3 mm, 200 Mesh). Eine Nachkontrastierung der Schnitte mit Uranylacetat und Bleicitrat war in allen Fällen erforderlich. Alle lichtmikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem Leitz-Photomikroskop angefertigt, die elektronenoptischen Untersuchungen mit einem Siemens Elmiskop 101 durchgeführt.

B. Ergebnisse

1) Lichtmikroskopische Untersuchungen

Am 32. Tag p.i. konnten in der Muskulatur zahlreiche junge Zysten angetroffen werden (Abb. 1). Sie liegen stets in einer Muskelfaser, sind von runder bis ovaler Gestalt und haben eine Größe von $18 \times 100 \mu\text{m}$. Sie werden von einer sehr dünnen Membran umgeben. Im Inneren der Zyste liegen viele, runde, ovoide und dicht zusammengedrängte Zellen (MC), deren Kerne dunkel gefärbt sind. Die Zyste beansprucht nur einen kleinen Teil der Muskelfaser und liegt stets in Längsrichtung der Muskelfibrillen.

Am 47. Tag p.i. (Abb. 2) beträgt die Dicke der Zystenwand ca. $2 \mu\text{m}$, am 55. Tag $2,6 \mu\text{m}$, am 64. Tag etwa $3,0 \mu\text{m}$ und am 90. Tag etwa $3,2 \mu\text{m}$. Eine charakteristische, radiäre Hell-Dunkelstreifung der Zystenwand ist ab 55. Tag p.i. erkennbar (Abb. 3). Dadurch erweckt sie den Eindruck einer "dickwandigen" Zyste. Neben runden, ovoiden Metrozyten (MC) enthält sie jetzt schon einige längliche Stadien, als Merozoiten (ME) erkennbar, die sich im Zentrum des Zysteninneren befinden. Eine schmale, homogen erscheinende Schicht trennt die an der Peripherie liegenden Metrozyten von der Zystenwand (Abb. 3, GS).

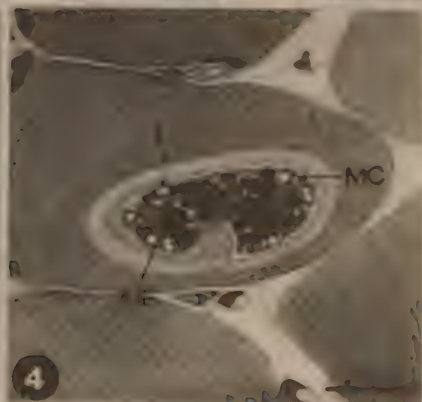
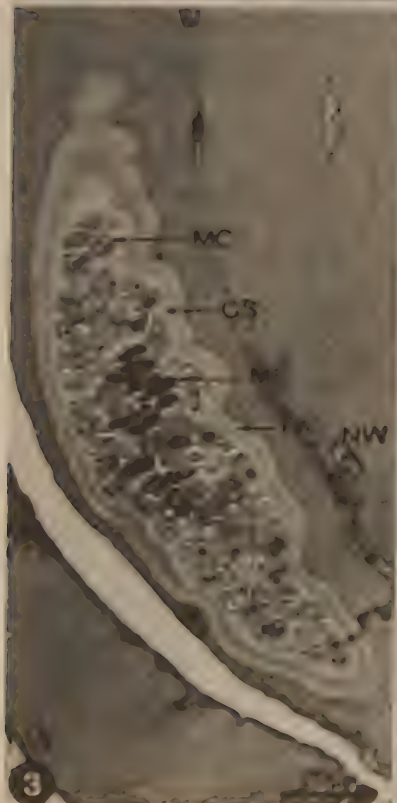
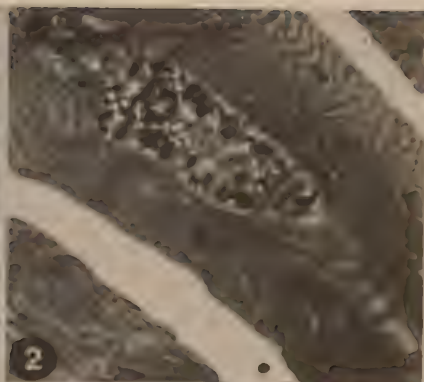
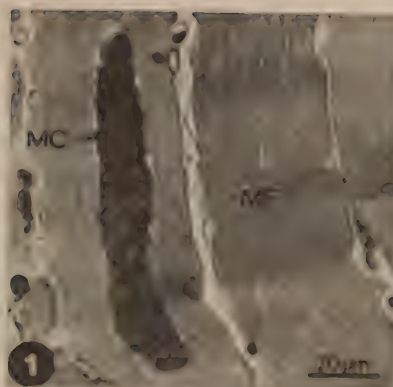
Am 64. Tag p.i. zeigt die Zystenwand ebenfalls diese radiäre Streifung (Abb. 4). Es sind viele bananenförmige Merozoiten im Zysteninneren zu beobachten, dagegen findet man an der Peripherie noch Metrozyten, in deren Zytoplasma Lipidtropfen als deutlich gelbgefärbte Grana festgestellt werden können (Abb. 4, L). Der Querdurchmesser der Zysten beträgt ca. $30-40 \mu\text{m}$.

Abkürzungen:

B	Bläßchenartige Einstülpungen	N	Nukleus
BF	Basis der Filamente	NU	Nukleolus
C	Conoid	NW	Nukleus der Wirtszelle
CH	Kernchromatin	OM	Äußere Membran
CW	Zystenwand	PA	Palisaden
DR	Ausführungsgänge der Rhoptrien	PE	Pellikula der Metrozyten und Merozoiten
E	Entzündungszone	PG	Polysaccharidgrana
ER	Endoplasmatisches Retikulum	PH	Primärhülle
F	Filamentöse Elemente	P	Vorderer Polring
GS	Zystengrundsubstanz	PP	Hinterer Polring
IM	Innere Membran	RH	Rhoptrien
L	Lipid	RI	Ribosome
MA	Merozoitenanlage	S	Spikes
MC	Metrozyten	TZ	Tochterzelle
ME	Merozoiten	VR	Vorläufer der Rhoptrien
MF	Myofibrillen	Z	Z-Linie der Myofibrille
MI	Mitochondrium	ZO	Zoite
MIH	Wirtsmitochondrium		
MN	Mikropore		

Abb. 1-5: Zysten verschiedener Entwicklungsstadien von *Sarcocystis suicainis* (Semidünnschnitte).

1: Dünnwandige Zyste mit Metrozyten (MC) am 32. Tag p.i., Längsschnitt. 2: Zyste am 47. Tag p.i., erhebliche Dickenzunahme der Zystenwand und Ausbildung von quer- und längsgetroffenen Vorwölbungen (CW). 3: Dickwandige Zyste mit Metrozyten (MC) und Merozoiten (ME) am 55. Tag p.i. 4: Muskelzyste mit starker Einfaltung der Zystenwand. Die randständigen Metrozyten enthalten Lipidtropfen (L). Querschnitt, 64. Tag p.i. 5: Querschnitt durch eine Zyste am 81. Tag p.i.; sie enthält vorwiegend Merozoiten.



Eine große Zahl an dicht zusammengedrängten, jedoch auch zum Teil locker liegenden Merozoiten kennzeichnen die Zysten am 81. Tag p.i. und am 90. Tag p.i. (Abb. 5). Lediglich noch vereinzelt liegen Metrozyten an der Peripherie des Zysteninneren. Die Zystenwand hat sich nur unwesentlich verstärkt. Die Zystenform ist variabel. Sie kann unregelmäßig schlangenförmig bis glatt-oval sein und zum Teil tiefe Einbuchtungen (Abb. 4) haben. Die Zysten wurden vorwiegend in der Zungen- und Unterzungmuskulatur gefunden.

Fast ohne Ausnahme liegen die Zysten reaktionslos in der Muskelfaser. Nur in zwei Fällen konnte eine Abwehrreaktion seitens des Wirtsgewebes beobachtet werden. Die Zysten lagen in einem breiten, herdförmigen Gebiet reaktiver Entzündung (Abb. 20, E). Dabei waren die Muskelfasern (MF) als solche kaum mehr zu erkennen. Sie hatten ihre Querstreifung gänzlich verloren und zerfielen in kleinere und größere, homogene Schollen (Abb. 20, MF). Zahlreiche Makrophagen und Lymphozyten umsäumten die Zysten. Sie selbst zeigten im Inneren eine gleichmäßig homogene Masse, mit zugrundegegangenen Zystenstadien (ZO) und Lipideinlagerungen. Auch die Zystenwand (Abb. 20, Pfeile) war an einer Stelle schon völlig aufgelöst, während eine andere nur eine gewisse Auflockerung zeigte.

2) Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die Entwicklung der Zystenwand konnte anhand der durchgeführten Zeitversuche verfolgt werden. Von besonderem Interesse für eine Artendifferenzierung ist ihr feinstruktureller Aufbau.

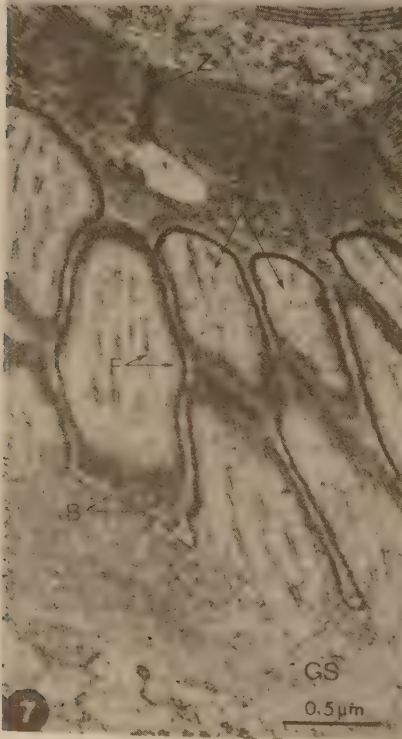
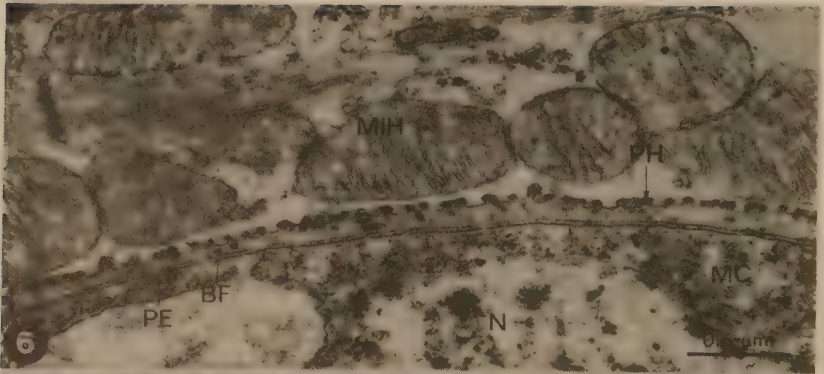
a) Zystenwand

Die Zyste von *Sarcocystis suicanis* entsteht zwischen den Myofibrillen und ist häufig von einem Mitochondriensaum des Wirtes umgeben, der der Zystenoberfläche direkt anliegt. Die äußere Begrenzung der Zyste wird von einer Elementarmembran dargestellt, die am 32. Tag p.i. schon stärkere Veränderungen zeigt (Abb. 6). Sie ist stark aufgefaltet; außerdem finden sich unterschiedlich breite, bläschenartige Einstülpungen von 25-75 nm Durchmesser. Zur Wirtszelle hin werden zahlreiche höcker- oder pilzähnliche Ausstülpungen gebildet, die 25-75 nm breit und bis zu 50 nm hoch sein können. Ihre Elementarmembran ist von einer ca. 25 nm dicken osmiophilen Schicht unterlagert, die die Ausstülpungen zum Teil ganz ausfüllt. Die Einbuchtungen erfahren keine derartigen Verstärkungen. Dadurch ergibt sich für die Primärhülle (Abb. 6, PH) ein unregelmäßig gezahntes, auf Tangentialschnitten ein schwammartiges Aussehen. Die 75 nm breite, homogen-feingranulierte Zystengrundsubstanz trennt die dicht zusammengedrängten Metrozyten im Inneren der Zyste voneinander und von der Primärhülle. Eingelagert in die Zystengrundsubstanz ist osmiophilscholliges Material (BF).

Bis zum 55. Tag p.i. erfährt die Oberfläche der Zyste eine erhebliche Vergrößerung durch weiteres starkes Wachstum der Vorwölbungen (Abb. 7, PA) der Primärhülle. Diese erscheinen jetzt finger-

Abb. 6-8: Ultrastruktur der Zystenwand von *Sarcocystis suicanis*.

6: Zystenwand nur aus der Primärhülle bestehend (32. Tag p.i.), Längsschnitt. 7: Zystenwand am 55. Tag p.i. 8: Palisadenartige Vorwölbungen der Zystenwand mit zirkulär und zentral angeordneten Filamenten (55. Tag p.i.), Querschnitt.



artig und stehen parallel als Palisaden nebeneinander. Die Vorwölbungen sind etwa $2,6\text{ }\mu\text{m}$ lang und messen im Durchmesser bis zu $0,7\text{ }\mu\text{m}$. Die der Elementarmembran unterlagerte osmiophile Schicht hat eine Stärke von 12-15 nm. Die Gesamtdicke der Primärhülle beträgt ca. 25 nm. Die Basis der Vorwölbungen weist viele kleine bläschenartige Einbuchtungen (B) auf, die jedoch von der osmiophilen Unterlagerung ausgespart bleiben. Im Inneren der im Querschnitt (Abb. 8) runden bis ovalen Vorwölbungen lassen sich von der Spitze bis in die Zystengrundsubstanz ziehende filamentöse Elemente (F) erkennen. Diese zeigen regelmäßige Anordnung, die auch während der weiteren Entwicklung der Zyste beibehalten wird.

Die Vorwölbungen erreichen zwischen dem 64. Tag p.i. und dem 90. Tag p.i. eine Länge von $2,7 - 3,2\text{ }\mu\text{m}$ und einen Durchmesser von $0,4-0,7\text{ }\mu\text{m}$. Sie stehen alle palisadenartig aufrecht und weisen einen Abstand untereinander von 30-60 nm auf (Abb. 9). Auf Querschnitten erscheinen sie rund, oval und polygonal. Die sie umgebende Primärhülle hat immer noch eine Stärke von 25 nm und verläuft kontinuierlich und glatt, zeigt jedoch hauptsächlich an der Spitze der Vorwölbungen kleine, feine, aufrechtstehende Härchen oder Spikes (Abb. 11, S), die den Eindruck eines Bürstensaumes erwecken. An der Basis der Vorwölbungen finden sich, wie am 55. Tag p.i., in großer Zahl unverdickte Stellen, welche auf Tangentialschnitten kreisrund erscheinen. Diese ins Zysteninnere gerichteten bläschenartigen Invaginationen messen im Durchmesser bis zu 40 nm (Abb. 12, B).

Im Inneren der Vorwölbungen verlaufen die bereits erwähnten filamentösen Elemente parallel zueinander zur Spitze, wo sie die osmiophile Schicht berühren. Sie haben ihren Ursprung in der Zystengrundsubstanz. Dort lassen sie sich bis in die unmittelbare Nähe der Metrozyten- und Merozoitenpellicula verfolgen, die sie jedoch nicht erreichen. An der Basis der Vorwölbungen erscheinen sie umgebogen.

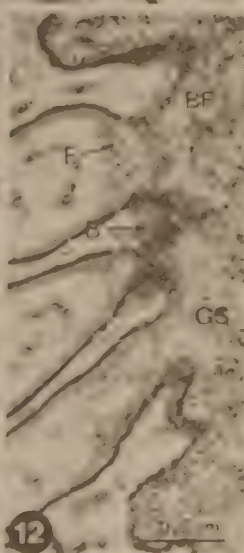
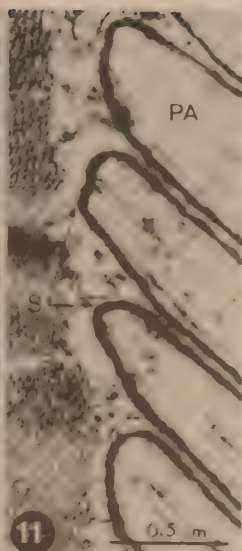
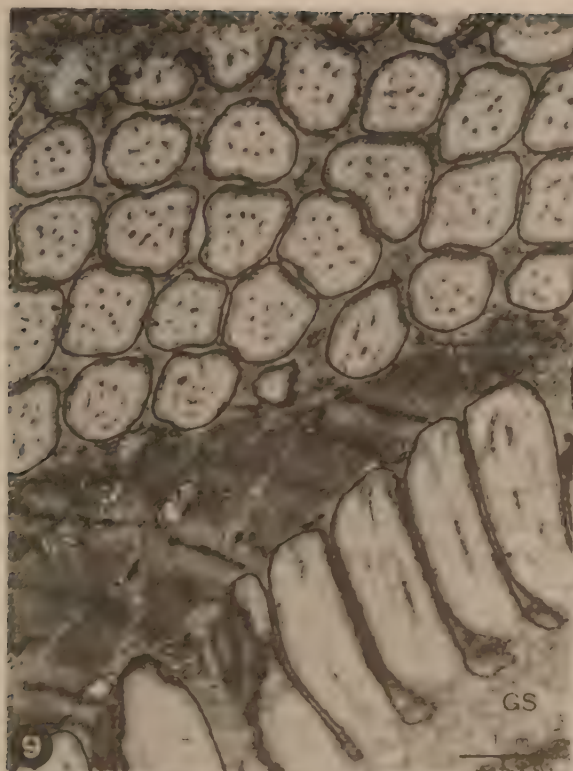
Querschnitte durch die Vorwölbungen lassen eine deutliche feststehende Anordnung dieser Filamente erkennen (Abb. 10). So bilden, je nach Größe der Vorwölbungen, 57 bis 62 Filamente einen Randsaum entlang der Primärhülle in einem Abstand von 10 nm. Sie stehen 20-30 nm weit auseinander und haben einen Durchmesser von 10-15 nm. Untereinander besitzen sie keine Verbindungen. Im Zentrum der Vorwölbungen liegen 5-8 gruppenartige Ansammlungen aus je 2-5 Filamenten. Die Filamente selbst scheinen aus mehreren Fibrillen zu bestehen, die besonders auf Querschnitten als stark osmiophile Granula erkennbar sind.

Die bis zu 0,9 μ m dicke Zystengrundsubstanz besteht aus einem homogenen, feinkörnigen, von den Filamenten durchzogenen Material. Von ihr strahlen Septen in das Zysteninnere und bilden so größere und kleinere, mit Merozoiten gefüllte Kammern. Ebenso werden die Vorwölbungen von diesem Material ausgefüllt. Doch erscheint es in ihnen fädig strukturiert, weniger homogen und elektronenlichter.

An der Kontaktzone der Zystenoberfläche mit dem sie umgebenden Muskelgewebe lassen sich keine Veränderungen beobachten. Die Muskelfaser ist immer als solche gut zu erkennen und zeigt ihre charakteristische Querstreifung. Die Vorwölbungen dringen nicht zwischen die Myofibrillen vor.

Abb. 9-12: Vorwölbungen der Zystenwand von *Sarcocystis suicanis*.

9: Längs- und Querschnitte der palisadenartigen Vorwölbungen der Zystenwand zweier Muskelzysten, 81. Tag p.i. 10: Palisaden, Querschnitt, 81. Tag p.i. 11: Palisaden mit Bürstenbesatz (S), Längsschnitt, 90. Tag p.i. 12: Basis der Vorwölbungen und Filamente in der Zystengrundsubstanz, 81. Tag p.i.



Die Entwicklung der Zystenwand erfolgt nach experimenteller Infektion in demselben Individuum nicht simultan. So konnten wir am 55. Tag p.i. neben den sich für diesen Zeitpunkt bereits weit ausdifferenzierten Zysten auch noch kleinere und nur Metrozyten enthaltende Zysten beobachten. Am 64. Tag p.i. bzw. 81. Tag p.i. zeigen sich die Zystenwände und die von ihnen umschlossenen Zysten weitgehend ausdifferenziert.

b) Zystenstadien

Zwei verschiedene Zystozoite lassen sich in den Muskelzysten von *Sarcocystis suicanis* beobachten. Sehr junge Zysten beinhalten ausschließlich teilungsaktive Metrozyten, während alte Zysten Merozoiten und nur noch vereinzelt Metrozyten aufweisen.

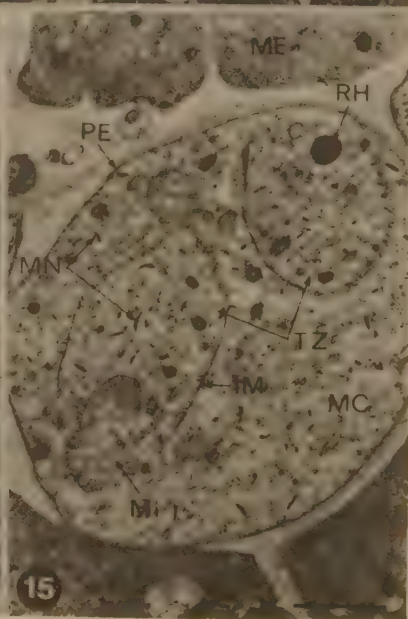
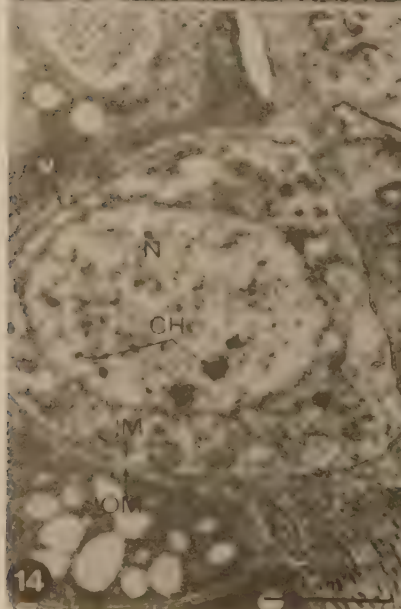
1) Metrozyten

Die Metrozyten (MC) sind ovoide Zellen von etwa 5-7 μm Länge und einem Durchmesser von 3-4 μm (Abb. 13 u. 14). Ihre äußere Begrenzung wird von einer aus drei Elementarmembranen bestehenden Pellikula gebildet, wobei die äußere Membran (OM) aus einer Einheitsmembran (Dicke ca. 6 nm) besteht, die innere (IM) jedoch aus zwei Elementarmembranen, die sehr dicht beieinander liegen. Daraus resultiert ihre Dicke von 12 nm. Der ovoid bis rund erscheinende Nukleus nimmt einen großen Teil des Metrozyten ein und hat eine Größe von etwa 3-4 μm x 3 μm . Er wird von einer typischen Kernmembran begrenzt und enthält einen großen, vorwiegend randständigen Nukleolus (NU). Das Kernchromatin ist diffus verteilt. Kondensate treten auf. Mitochondrien (MI) vom tubulären Typ sowie Rhoptrien (RH) sind in geringer Zahl vorhanden.

Mit zunehmendem Alter der Zysten nimmt auch die Anzahl der Metrozyten ab. So finden wir am 32. Tag p.i. ausschließlich diese teilungsaktiven Zellen (Abb. 13), während sie am 81. und 90.Tag p.i. nur noch vereinzelt angetroffen werden. Sie sind jedoch alle noch zur ungeschlechtlichen Vermehrung (Endodyogenie) befähigt. Als Initialstadium dieses Vorganges kann die Ausbildung einer Merozoitenanlage (Abb. 13, MA) in Metrozyten angesehen werden. Das diffus und aufgehellte erscheinende Grundzytoplasma der Mutterzelle zeigt alle Organellen der später zu beschreibenden Tochterzellen. Daneben werden auch die Organellen des Apikal-komplexes wie Rhoptrien, Mikronemen und Conoid angetroffen. Die Tochterzellen werden zunächst nur von den beiden inneren Membranen der späteren Merozoiten begleitet, wobei am hinteren Pol noch eine Öffnung erhalten bleibt. Im Verlaufe der Differenzierung werden alle Organellen entweder neu gebildet oder von der Mutterzelle aus einverleibt. Dies ist besonders am Beispiel der Mitochondrien vom tubulären Typ deutlich (Abb. 15, MI). Im weiteren Verlauf wird der junge Parasit auch an seinem Hinterende (Abb. 13, PP) geschlossen. Seine äußere Membran (OM) erhält er allem Anschein nach von der Pellikula der Mutterzelle beim Verlassen oder bei der Auflösung.

Abb. 13-15: Ultrastruktur der Metrozyten von *Sarcocystis suicanis*.

13: Längsschnitt durch eine junge Zyste am 32. Tag p.i., die ausschließlich Metrozyten enthält. Merozoitenanlage (MA, rechts oben) und zahlreiche Tochterzellen weisen auf ablaufende Endodyogenie hin.
14: Querschnitt durch einen Metrozyten. 15: Ungeschlechtliche Vermehrung (Endodyogenie). Zwei sich entwickelnde Tochterzellen (TZ) im Metrozyt gelegen, 81. Tag p.i.



2) Merozoiten

Die Merozoiten sind von bananenförmiger Gestalt, zum Teil erscheinen sie gedrunken (Abb. 16). Deshalb sind sie nur sehr selten in voller Länge im Längsschnitt anzutreffen. Ihre Länge beträgt etwa 7-10 μm und ihre Breite 2-4 μm . Sie sind ebenfalls von einer typischen Sporozoenpellikula begrenzt, die aus drei Membranen besteht, wobei die beiden inneren Membranen sehr eng beieinander zu liegen kommen. Zwischen den beiden inneren und der äußeren Membran besteht ein ca. 13 nm breiter Spalt. Die Gesamtdicke der Pellikula beträgt etwa 42 nm. Die beiden inneren Membranen lassen am vorderen und hinteren Zellpol eine Öffnung frei, deren Ende verdickt ist und so je einen Polring bilden. Außerdem werden sie von einer oder mehreren Mikroporen (Abb. 18, MP) unterbrochen, die bevorzugt im vorderen Zellabschnitt liegen und einen Durchmesser von 125 - 150 nm aufweisen. Gebildet werden diese Mikroporen von der äußeren Elementarmembran, die sie auskleidet, während die beiden inneren Membranen sie seitlich verstärken. Des öfteren sind Vakuolen innerhalb der Mikroporen oder im Merozoiten in ihrer Nachbarschaft anzutreffen.

Vom vorderen Polring umschlossen liegt das Conoid (Abb. 17, C u. 18) mit einem Durchmesser am Apex von etwa 370 nm und einer Höhe von 300-350 nm. Das Conoid ist aus ca. 7-8 ringförmigen und spiraligen Elementen zusammengesetzt, den conoidalen Ringen (Abb. 18, Pfeile). Auf Längsschnitten lassen sich abwechselnd helle und dunkle Zonen erkennen, die auf Tangentialschnitten als gleichmäßige diagonale Streifung erscheint. In dieses Conoid münden 3-4 Ausführungsgänge von Rhoptrien (DR).

Am vorderen Zellpol entspringen 22 subpellikuläre Mikrotubuli (Pfeile) mit einem Durchmesser von 20-25 nm. Sie ziehen in spiraligen Windungen zum hinteren Zellpol.

Es werden 7-9 Rhoptrien von keulenförmiger Gestalt angetroffen. An ihrem Endstück messen sie bis zu 410 nm und an ihrem Mündungsteil 37 nm im Durchmesser. Sie liegen hauptsächlich im mittleren Zellabschnitt. Es werden sowohl in der Entwicklung befindliche

feingranulierte wie auch ausgereifte Rhoptrien gefunden (Abb. 16). Letztere haben eine stark homogene, osmiophile Grundsubstanz. Umgeben werden beide Formen von einer einfachen Membran. Eine größere Anzahl von Mikronemen (MN) findet sich im mittleren und vorderen Zellabschnitt. Zum hinteren Zellpol hin verlaufen sie, zahlenmäßig stark abnehmend, dicht unterhalb der Pellikula in einem schmalen Randsaum. Sie scheinen stäbchenförmige, osmiophile Elemente zu sein mit einer durchschnittlichen Länge von $0,23 \mu\text{m}$. Im Querschnitt erscheinen sie rund und haben einen Durchmesser von etwa 47nm .

Im hinteren Zellabschnitt findet sich der Nukleus. Er ist groß, von ovaler und zum Teil runder Gestalt. Der Nukleolus ist häufig randständig anzutreffen. Die chromosomalen Strukturen erscheinen zum einen als größere, verdichtete und osmiophile Bezirke, die häufig am Kernrand zu finden sind, und zum anderen als kleine, über den ganzen Nukleus verstreute Grana. In der Umgebung des Kernes liegt immer ein meist abgeknicktes Mitochondrium vom tubulären Typ (Abb. 16 u. 19), in dessen Nähe ein Golgi-Apparat liegen kann.

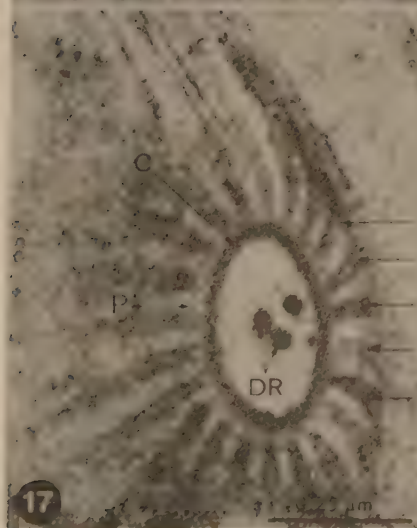
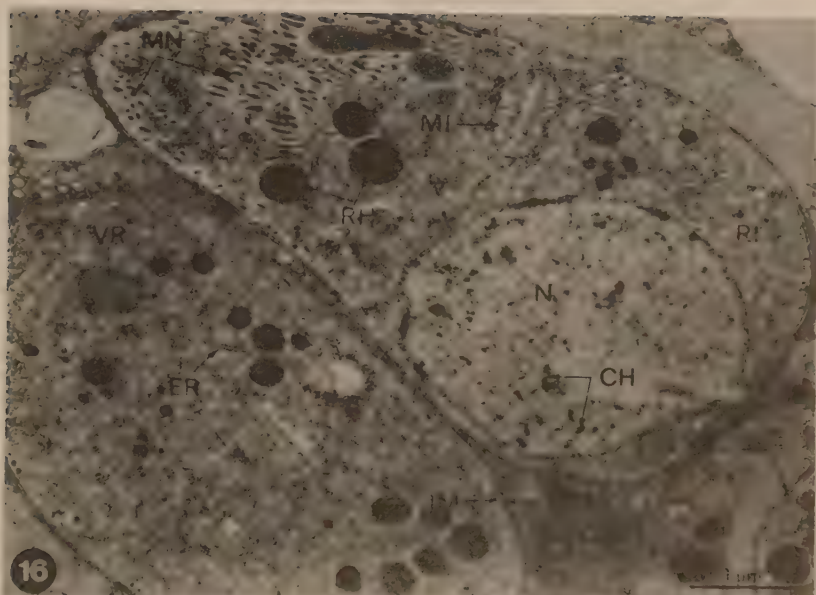
Über den ganzen Merozoiten verstreut liegen unzählige Ribosomen und viele runde Polysaccharidgrana (PG) von $0,25-0,3 \mu\text{m}$ Durchmesser. Das rauhe endoplasmatische Retikulum (ER) ist gut ausgebildet.

Abb. 16-19: Ultrastruktur der Merozoiten von *Sarcocystis suicanis*.

16: Übersichtsaufnahme. 17: Conoid mit 22 subpellikulären Mikrotubuli (Pfeile), die am Polring (P) inserieren.

18: Mikropore (MP) und Conoid mit 7-8 conoidalen Ringen (Pfeile).

19: Mitochondrium vom tubulären Typ und Rhoptrienendstücke.

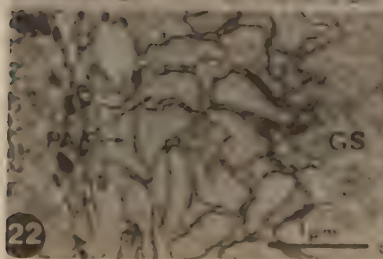
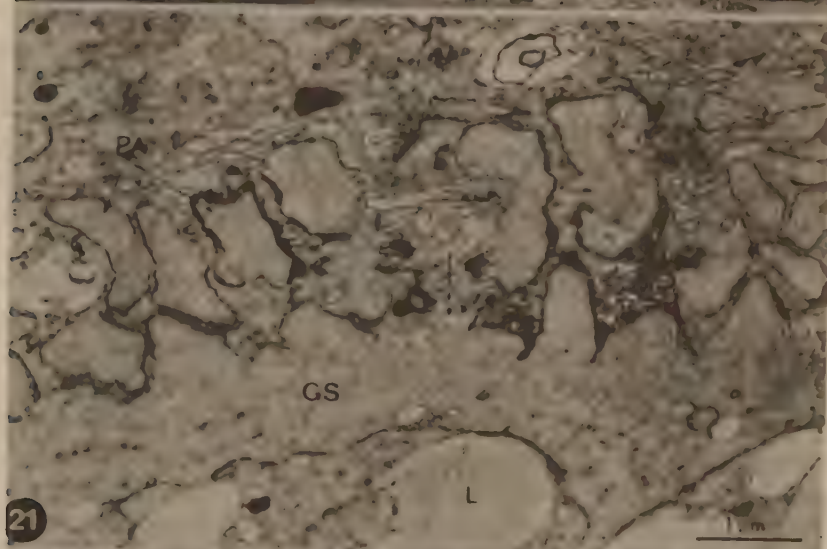
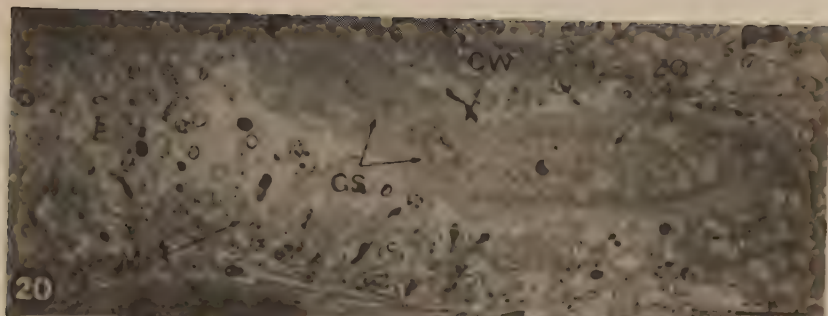


Die am 81. Tag p.i. zu beobachtenden abgestorbenen Muskelzysten zeigen deutliche Veränderungen sowohl an der Zystenwand (Abb. 21 und 22) wie auch an den Zoiten (Abb. 23). Die im Lichtmikroskop (Abb. 20) an mehreren Stellen erkennbaren Auflockerungen der palisadenartigen Vorwölbungen der Primärhülle lassen sich mittels des Elektronenmikroskops bestätigen. Die Vorwölbungen verlieren mehr oder weniger ihre palisadenartige Anordnung und auf Querschnitten erkennbar ihre ursprüngliche polygonale und ovale Form. Ein homogen erscheinendes Material drängt sich zwischen sie ein und drückt sie so weiter auseinander (Abb. 22). An der Basis der Vorwölbungen sind keine bläschenartigen Invaginationen mehr zu erkennen. Die Primärhülle zeigt zuerst einen kleinen Defekt, der sich aber ständig vergrößert (Abb. 21, Pfeile). Die die Vorwölbungen ausfüllende Zystengrundsubstanz löst sich auf, bis die Vorwölbungen schließlich als solche nicht mehr zu erkennen sind. Sie hinterlassen eine mehr oder weniger große Lücke in der Zystenwand.

Die im Inneren der Zyste befindlichen Zoiten sind von einer jetzt mehrfach unterbrochenen Pellikula umgeben. Die für sie charakteristischen Organellen sind nicht mehr zu erkennen. Vielmehr wird der ganze Zoit von großen, homogen erscheinenden, runden und lipidgefüllten Vakuolen ausgefüllt (Abb. 23, L), die in einem der Zystengrundsubstanz ähnlichem Material eingelagert sind. Neben stark geschädigten Zoiten kommen auch noch, wenn auch selten kaum veränderte als Merozoiten erkennbare vor. Das ganze, die Zyste umgebende Muskelgewebe zeigt als Reaktion auf die Parasiten eine Anhäufung von Makrophagen. Die Myofibrillen werden zum Teil aufgelöst.

Abb. 20-23: Licht- und Elektronenmikroskopie des Zelltodes von *Sarcocystis suicanis*.

20: Zugrundegehende Muskelzyste mit Defekten in der Zystenwand (Pfeile) in einem Gebiet reaktiver Entzündung (Semidünnschnitt).
21: In Auflösung begriffene Zyste und zelluläre Infiltration zwischen die Vorwölbungen (Pfeile). 22: Deformation der Vorwölbungen.
23: Fettig degenerierter Zoit.



IV. Besprechung der Ergebnisse

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Muskelzysten von *Sarcocystis suicanis* zeigen denselben Grundbauplan wie alle anderen bisher beschriebenen *Sarcocystis*-arten der Haus- und Wildtiere.

Die Primärhülle von *S. suicanis* zeigt bei lichtmikroskopischer Betrachtung auf Längs- und Querschnitten, wie die von *S. ovicanis* (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH 1975a), *S. bovis* (GESTRICH, MEHLHORN und HEYDORN 1975) und *S. bovis hominis* (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH 1975 c), zahlreiche aufrecht und palisadenartig stehende Vorwölbungen. Zu ähnlichen Befunden kommen RZEP-CZYK und SCHOLTYSECK (1976) bei *Sarcocystis* Typ A der Ratte (*Rattus fuscipes*), BERGMANN und KINDER (1976) beim Wildschwein Typ W2 und einem Reh Typ Rh1 sowie DUBEY und Mitarb. (1977) beim Pferd. Hierdurch entsteht der Eindruck einer dicken, radiär gestreiften Zystenwand. Dagegen konnten HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975 b) bei *S. bovis*, ROMMEL und GEISEL (1975) sowie GÖBEL (1976) bei *S. equicanis* und JANITSCHKE, PROTZ und WERNER (1976) bei der Grantgazelle diese Strukturen nicht erkennen. Vielmehr erscheint bei diesen Arten die Zystenwand als eine dünne und zum Teil kaum wahrnehmbare Membran.

Feinstrukturelle Unterschiede der Vorwölbungen bei den einzelnen Arten lassen sich jedoch erkennen. *Sarcocystis suicanis* bildet bis zu 3,2 μm lange und 0,4-0,7 μm breite, aufrechtstehende Vorwölbungen aus. Alle beim Hund (als Endwirt) vorkommenden *Sarcosporidien*-arten bilden im Zwischenwirt teils gleichlange, breite und aufrechtstehende Vorwölbungen aus, teils wird die Zystenwand von schräg gestellten Vorwölbungen gebildet (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH, 1975 b, GÖBEL 1976). Abgesehen von der geschilderten Ultrastruktur scheinen aufgrund unserer Messungen der Durchmesser und die Länge der Vorwölbungen, verglichen mit denen von MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) beim Wildschwein festgestellten, eine zumindest in dieser Hinsicht bestehende Iden-

tität zu zeigen.

Die von uns mit 25 nm Dicke gemessene Primärhülle entspricht derjenigen bei vielen anderen bisher untersuchten Arten. Jedoch weisen *S. sui hominis* (MEHLHORN und HEYDORN, 1977) mit 30-40 nm, *S. bovi hominis* (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH, 1975 c) mit 32 nm, *Sarcocystis* spp. des Huhnes mit 35 nm und die des Staes mit 50 nm (MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN, 1976) und *Sarcocystis* spp. des Rehes Typ 1 (BERGMANN und KINDER, 1976) mit über 40 nm eine erheblich dickere Primärhülle auf.

Der bei *S. suicanis* entlang der Primärhülle der Vorwölbungen ausgebildete Bürstensaum bzw. die einzelnen Spikes, die auch BERGMANN und KINDER (1976) bei der dickwandigen Zyste des Rehes gefunden haben, können ebenso wie die nochmalige Auf-faltung der Primärhülle bei *S. bovi hominis* und *S. equicanis* als Oberflächenvergrößerung angesehen werden.

Die an der Basis der Vorwölbungen auftretenden, bläschenartigen Invaginationen, die vermutlich der Nährstoffaufnahme dienen, lassen sich bei allen bisher untersuchten Arten nachweisen. Bei *S. ovifelis*, *S. spp.* des Staes und *S. spp.* der Ratte (MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN 1976) erstrecken sich diese sogar über die ganze Oberfläche der Vorwölbungen.

Als eines der wichtigsten Kriterien zur Unterscheidung der einzelnen Arten erweist sich der innere Feinbau der Vorwölbungen. Hierbei kann man beträchtliche Abweichungen der einzelnen Arten beobachten. So weist *S. suicanis* zahlreiche filamentöse Elemente in den palisadenartigen Vorwölbungen auf, wie sie in dieser Form bei andere Sarkosporidienarten nicht auftreten. 57 bis 62 derartiger Filamente bilden in einem bestimmten Abstand einen einreihigen Randsaum unter der Primärhülle, während sie im Zentrum der Palisaden gruppenweise unregelmäßig zusammenliegen. MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) fanden bei Sarkosporidien-zysten des Wildschweines in den Palisaden ebenfalls eine einzige Lage filamentöser Elemente unter der Primärhülle. Jedoch wurden

im Zentrum keine Fibrillen nachgewiesen. Anhand von Längsschnitten glauben die Verfasser, daß es sich bei den Fibrillen um Mikrotubuli handelt. Wir konnten weder auf Längs- noch auf Querschnitten irgendwelche Hohlräume in den Filamenten beobachten. Eine Übereinstimmung dieser Sarcocystisart vom Wildschwein mit *S. suicanis* besteht somit nicht.

Bei *S. sui hominis* (MEHLHORN und HEYDORN 1977) hingegen sind die Filamente der Vorwölbungen zunächst unregelmäßig, später in konzentrischen Ringen im Lumen verteilt. BERGMANN und KINDER (1976) berichten unter der Bezeichnung Wildschwein-Typ W2 von wiederum einem anderen Verlauf der Filamente. Beide beim Wildschwein beschriebenen Filamentarten werden weder bei *S. suicanis* noch bei *S. sui hominis* angetroffen. Nach DUBEY (1976) könnte es sich um die noch bekannte Art handeln, für die die Katze als Endwirt in Frage kommt.

GESTRICH, MEHLHORN und HEYDORN (1975 b) sprechen bei *S. bovis felis* von zu tubulären Strukturen angeordneten Fibrillen. MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975 c) fanden bei *S. bovis hominis* nur im Zentrum angeordnete, mit Querverbindungen untereinander in Kontakt stehende Fibrillen, während diese beim Star (ZEVE, PRICE und HERMAN 1966) und bei *S. equicanis* (GÖBEL 1976) in Bündeln zusammenliegen.

Keine fibrillären Elemente sind bei *Sarcocystis* spp. der Ratte (MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN 1976), bei *S. ovicanis* und *S. bovicanis* (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH 1975 a, 1975 b) und beim Reh Typ Rh2 (BERGMANN und KINDER 1976) zu erkennen. MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1973) bezeichnen die bei *S. tenella* des Schafes gefundenen filamentösen Elemente als in der Auflösung befindliche Muskelfilamente, später jedoch als Mikrotubuli (MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN 1976).

Über die Funktion dieser Fibrillen herrscht bis heute noch Unklarheit. So vermuten LUDVIK (1960) eine Transportfunktion für Nährstoffe, MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH (1975 c) eine Stützfunktion. Für *S. ovis* kann diese Funktion ausgeschlossen werden, da sie trotz fehlender fibrillärer Strukturen aufrechtstehende Vorwölbungen aufweist. Die in reifen Zysten innerhalb der Zystengrundsubstanz aufzufindenden, osmiophilen Granula stellen die Basis der filamentösen Elemente dar.

Bei *S. suia* teilt, wie bei allen anderen bisher untersuchten Arten von Rind, Schaf und Schwein, die Zystengrundsubstanz das Innere der reifen Zysten in größere und kleinere Kammern durch das Einstrahlen von sehr feinen Septen. Nach den Ergebnissen, die an *S. ovis*, *S. bovis* und *S. bovis hominis* von anderen Autoren sowie an *S. suia* nach Zeitversuchen von uns ermittelt wurden, trifft dies für junge Zysten nicht zu. Vielmehr liegen hier die Metrozyten in die Zystengrundsubstanz direkt eingebettet.

Am 32. Tag p.i. zeigt die Zystenbegrenzung von *S. suia* eine sehr starke Fältelung, wobei sich bis zu 50 nm hohe, von einer osmiophilen Schicht unterlagerte Ausstülpungen bilden. Neben der glatten Primärhülle wurden zu diesem Zeitpunkt auch verstärkte Invaginationen beobachtet. Die Ausbuchtungen zur Wirtszelle hin können als sehr früher Beginn der Oberflächenvergrößerung der Zyste angesehen werden. Solche Auffaltungen der Primärhülle fanden auch SHEFFIELD, FRENKEL und RUIZ (1977) bei alten Muskelzysten von *S. muris*, MEHLHORN, HARTLEY und HEYDORN (1976) bei solchen des Wales und beim Rhesusaffen und MEHLHORN, HEYDORN und JANITSCHKE (1977) an drei verschiedenen Affenspezies. Die Zystenbildung von *S. suia* in der Muskulatur erfolgt durch Ausbildung der Primärhülle vor dem 32. Tag p.i. Die Untersuchungen von MEHLHORN, HEYDORN u. GESTRICH (1975 b, 1975 c) an *S. bovis* und an *S. bovis hominis* scheinen dies zu bestätigen, wobei die angetroffenen Metrozyten beider Sarkosporidienarten

die Zeitdifferenzen unwesentlich erscheinen lassen. Allerdings finden MEHLHORN, HEYDORN u. GESTRICH (1975 b) bei *S. bovicanis* am 62. Tag p.i. beinahe ausschließlich Metrozyten im Zysteninneren, während bei *S. suicanis* zu diesem Zeitpunkt ein großer Teil der Zystenstadien bereits Merozoiten anzutreffen sind.

Zwei Arbeiten über die Ultrastruktur der Sarkosporidien des Hausschweines liegen vor. Beide haben jedoch keine gezielte experimentelle Infektion der Tiere zur Grundlage, sondern lediglich Spontaninfektionen. Die jüngste stammt von BERGMANN und KINDER (1974). Sie weisen den gleichen Grundaufbau wie bei allen anderen Sarkosporidien nach. Eine entscheidende Bedeutung kommt wiederum der Ausbildung und dem Aufbau der Vorwölbungen der Primärhülle zu. Die Protrusionen entspringen radiär, verlaufen gewunden und oft stark geschlängelt und bilden Regionen mit starkem und schwachem Besatz. Sie stehen nicht palisadenartig wie bei *S. suicanis*. Ferner finden die Verfasser 25-45 Doppelfilamente, die konzentrisch im Innern der Vorwölbungen liegen. Aufgrund dieser Ergebnisse handelt es sich bei dieser Sarkosporidienart des Schweines nicht um *S. suicanis*.

LUDVIK (1960) beschreibt in seinen elektronenoptischen Untersuchungen zwei verschiedene Arten von Vorwölbungen, nämlich palisadenartig stehende und haarartig liegende. Da die Filamente in ihrem Aufbau nicht genau festgelegt werden können, handelt es sich hier möglicherweise um *S. suicanis* oder um junge *S. suihominis* Zysten, oder infolge der haarartigen Vorwölbungen sicher um *S. suihominis*.

Unter Berücksichtigung von Zwischenwirt, Alter und Aufbau der Zysten genügt für eine genaue Speziesdifferenzierung der Schweinesarkosporidien nach vorliegenden und nach Untersuchungen von MEHLHORN und HEYDORN (1977) an *S. suihominis* die lichtmikroskopische Untersuchung nicht; denn selbst bei Zysten, deren Wand be-

reits Vorwölbungen zeigt, können bis ca. zum 55. Tag p.i. bei beiden Arten diese Protrusionen palisadenartig stehen. Lichtmikroskopisch festgestellte haarartig stehende Vorwölbungen sind jedoch als zu *S. sui hominis* gehörend identifizierbar.

Die sehr teilungsaktiven Metrozyten der verschiedenen Sarkosporidienarten weisen nur in ihrer äußeren Gestalt Unterschiede auf. Sie messen bei *S. suicanis* 5-7 μm in der Länge und haben eine Breite von 3-4 μm . Eine stärkere Abweichung zeigt sich bei den von MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1973) in den Muskelzysten des Schafes gefundenen Metrozyten, die mit bis zu 20 μm Länge beträchtlich größer sind, und bei *S. bovis felis* (GESTRICH, MEHLHORN und HEYDORN 1975) mit 12-14 μm . Zahlreiche Oberflächeneinfaltungen, wie sie von SCHOLTYSECK, MEHLHORN und MÜLLER (1973) bei *S. tenella* und HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975 a) bei *S. bovis hominis* beschrieben werden, finden sich bei den Metrozyten von *S. suicanis* nicht. Weitere signifikante Unterschiede zu den bisher bei den Sarkosporidien untersuchten Metrozyten bestehen nicht.

Die in den Zysten ablaufende ungeschlechtliche Vermehrung (= Endodyogenie) entspricht den Verhältnissen bei den anderen untersuchten Arten. LUDVIK (1960), ZEVE, PRICE und HERMAN (1966) und SIMPSON (1966) konnten keine Metrozyten auffinden. Vermutlich handelte es sich bei ihren Untersuchungen um alte Muskelzysten, in denen keine weiteren Endodyogenien mehr stattfanden.

Größere Abweichungen in der Mikromorphologie der Zystenstadien beschränken sich in erster Linie auf die infektionstüchtigen Merozoiten. Die Merozoiten von *S. suicanis* haben mit einer Länge von etwa 7-10 μm und einer Breite von 2-3 μm fast dieselben Abmessungen wie die von HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975a) bei *S. bovis hominis* und die von LUDVIK (1960) bei *S. miescheria-*

na gefundenen Werte. Auffallend ist, daß sich bei den bisher untersuchten Merozoiten nur in den Längen beträchtliche Unterschiede ergeben. In ihrer Breite stimmen sie weitgehend überein. Dies kann vielleicht dadurch erklärt werden, daß sie aufgrund ihrer bananenförmigen Gestalt und ihrer unregelmäßigen Lage innerhalb der Zysten äußerst selten in ihrer vollen Länge angeschnitten werden.

Die Merozoiten von *S. suicanis* lassen sich in drei Abschnitte unterteilen. Im vorderen Drittel finden sich Apikalkomplex und Mikronemen, im mittleren Mikronemen und Rhoptrien und im hinteren Teil der Nukleus und die Mitochondrienanschnitte. Eine derartige Dreiteilung beschreiben auch LUDVIK (1960) bei *S. miescheriana* und HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975 b) bei *S. bovicanis*. Diese Beispiele dokumentieren jedoch den allgemeinen Bauplan der motilen Stadien aller Sarkosporidienarten. Das Conoid besteht bei *S. suicanis* aus ca. 8 ringförmigen und spiraligen Elementen. Die Anzahl dieser Strukturen in den anderen untersuchten Merozoitenarten weicht nur geringfügig ab. Das Conoid ist breiter als hoch. Bei schrägstehendem Conoid erreicht dieses nach SCHOLTYSECK, MEHLHORN und FRIEDHOFF (1970) den apikalen Polring nicht. Diese Betrachtung und die Erkenntnisse über den Verlauf der conoidalen Ringe lassen den Schluß zu, daß diese um so steiler angeordnet sind, je stärker das Conoid ausgestülpt ist. 22 subpelliculäre Mikrotubuli, die in spiraligen Windungen vom vorderen zum hinteren Zellpol ziehen, sind sowohl bei *S. suicanis* als auch bei den anderen untersuchten Arten aufzufinden. Ebenso zeigt ihr Durchmesser keine bedeutenden Abweichungen untereinander. Die Anzahl dieser subpelliculären Mikrotubuli ist für die Gattung *Sarcocystitis* charakteristisch.

Die Mikronemen häufen sich bei *S. suicanis* im vorderen Zeldrittel an und ziehen dicht unter der Pellikula in geringer Anzahl zum hinteren Zellpol hin. Bei den meisten Arten füllen diese Mikronemen den vorderen Zellabschnitt aus. Lediglich bei *S. bovi hominis* finden sich die Mikronemen in geringer Anzahl dicht unter der Pellikula und mikronemenähnliche Strukturen zwischen der äußeren und den beiden inneren Elementarmembranen (HEYDRON, MEHLHORN und GESTRICH 1975 a). Dies fand GÜBEL (1976) auch bei *S. equicanis*.

Der Golgi-Apparat liegt entweder vor dem vorderen Zellpol (MEHLHORN, HEYDORN und GESTRICH, 1975 a; HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH 1975 b) oder er befindet sich in unmittelbarer Nähe eines Mitochondriums, wie bei *S. suicanis*. Ein sogenanntes Golgi-Adjunkt, wie RUIZ und FRENKEL (1977) beschrieben, konnten wir nicht beobachten. Bei *S. suicanis* befinden sich bis zu 9 Rhoptrien im vorderen und mittleren Drittel der Merozoiten, was mit den Ergebnissen von HEYDORN, MEHLHORN und GESTRICH (1975 a) bei *S. bovi hominis* übereinstimmt; bei den übrigen Sarkosporidienarten wurde bisher eine größere Zahl solcher Endstücke gefunden. Auch scheint der Halsteil der Ausführungsgänge bei *S. suicanis* mit einem Durchmesser von 37 μ m schlanker als bei anderen Haustier-Sarkosporidienarten zu sein.

Reaktionen seitens des Wirtsgewebes treten anscheinend erst auf, wenn die Zyste abstirbt. Nach NIEBERLE und COHRS (1970) kommt es durch Austreten von Sarkozystin oder Sarkosporidin aus der Zyste zur Schädigung der Muskelzelle, zu einer reaktiven Entzündung und schließlich zur Verkalkung. Muskelfasern, in denen wir abgestorbene Zysten fanden, enthielten nur noch wenige kleine Schollen und zeigten eine von PALLASKE (1960) beschriebene starke zelluläre Reaktion. Da Verkalkungen fehlten, muß es

sich um frisch abgestorbene Zysten gehandelt haben. Die Zystenwand war weitaus geringer geschädigt als die im Zysteninneren befindlichen, der fettigen Degeneration anheimgefallenen Merozoiten.

V. Zusammenfassung

An Muskelproben von 6 Hausschweinen, die mit je 100 000 Sporozysten von *Sarcocystis suicanis* künstlich infiziert und am 32., 47., 55., 64., 81. bzw. 90. Tag p.i. getötet worden waren, wurde die Ultrastruktur der Sarkosporidien untersucht.

Aufgrund lichtmikroskopischer Vorprüfung von Semidünnschnitten sind vom 32. Tag p.i. die in den Muskelfasern gelegenen Zysten nur von einer dünnen Membran umgeben; die Zystenwand zeigt ab dem 55. Tag p.i. eine radiäre Hell-Dunkel-Streifung von 2,6 μm Dicke und erreicht am 90. Tag p.i. eine Dicke von 3,2 μm .

Im Elektronenmikroskop stellt die Zystenwand am 32. Tag p.i. eine als Elementarmembran mit osmiophilem Material unterlagerte Hülle dar. Sie bildet Ausstülpungen nach außen und nach innen. Bis zum 55. Tag p.i. nehmen die Vorwölbungen nach außen an Größe zu und kommen palisadenartig nebeneinander zu stehen. Im Inneren laufen 57-62 durchgehende filamentöse Elemente als Randsaum unter der Primärhülle in einem Abstand von 10 nm. Im Zentrum der Vorwölbungen liegen noch 5-8 Gruppen zu je 2-5 Filamenten. Ihr Ursprung liegt in der Zystengrundsubstanz. Da diese Filamente ihre Anordnung auch in reifen Zysten beibehalten, können sie für *Sarcocystis suicanis* als charakteristisch angesehen werden.

Die Zystengrundsubstanz ist homogen verteilt, enthält am 32. Tag p.i. bereits Merozoiten und bildet am 47. Tag p.i. ins Zysteninnere ziehende Septen aus. Die eingelagerten Zoiten vermehren sich durch Endodyogenie und zeigen den für alle zystenbildenden Kokzidien typischen Aufbau. Ausgereifte Zysten fallen teilweise der fettigen Degeneration anheim, wobei auch die Wirtszelle phagozytiert wird. Zysten von *Sarcocystis suicanis* sind nach vollständiger Ausbildung der Vorwölbungen der Primärhülle mit Sicherheit von Zysten von *Sarcocystis suis hominis* zu unterscheiden.

Summary

Light and electron microscop studies on cysts of Sarcocystis suicanis in muscles of experimentally infected pigs.

Six young pigs were experimentally infected with 100 000 sporocysts of *Sarcocystis suicanis* and killed on the 32nd, 47th, 55th, 64th, 81th and 90th day p.i. The ultrastructure of sarcocysts in the muscle cells was studied.

Light microscopical preliminary examination of the 32nd day p.i. showed cysts which lie in muscle fibres and are surrounded by a fine membran. On the 55th day p.i. the cyst wall showed radial light-and dark stripes of 2,6 μm thickness, and which reached a thickness of 3,2 μm on the 90th day p.i.

The electron microscopic study of the cyst wall on the 32nd day p.i. showed a unit membran which its numerous small outward projections is underlined by osmiophilic material, that is absend in the inwardly directed invaginations. During the growth of the cyst, this primary cyst wall became regularly folded, forming many protrusions on the 55th day p.i. These appeared palisade-like and contained 57-62 filamentous elements in a single layer under the primary wall at a distance of 10 nm. In the centre of the protrusions there were 5-8 groups, each comprising 2-5 filaments. They have their origin in the groundsubstance. The filaments maintain their arrangement as in old cysts, they can be regarded as characteristic of *Sarcocystis suicanis*.

The groundsubstance is homogenous; on the 32nd day p.i. it contains metrocytes, and develops septa towards the interior of the cyst on the 47th day p.i. The parasites were reproduced by endodyogeny and appeared very similar to the structure of all cyst forming coccidians. Old cysts degenerated fattily and the host cells were destroyed.

The cysts of *Sarcocystis suicanis* with complete development of the protrusions of the primary wall can certainly be differentiated from cysts of *Sarcocystis suis hominis*.

F. Literaturverzeichnis

- Bergmann, V., E. Kinder (1974): Elektronenmikroskopische Befunde an der Parasit-Wirt-Kontaktzone von *Sarcocystis miescheriana* in Muskelfasern des Schweines.
Mh. Vet. Med. 29, 956-958
- Bergmann, V., E. Kinder (1975 a): Ultrastruktur der Zystenwand von Sarkozysten in Muskelfasern spontan infizierter Rinder.
Mh. Vet. Med. 30, 945-947
- Bergmann, V., E. Kinder (1975 b): Unterschiede in der Struktur der Zystenwand bei Sarkozysten des Schafes.
Mh. Vet. Med. 30, 772-774
- Bergmann, V., E. Kinder (1976): Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Wandstruktur von Sarkozysten in der Skelettmuskulatur von Wildschwein und Reh.
Mh. Vet. Med. 31, 785-788
- Dubey, J.P. (1976): A Review of *Sarcocystis* of Domestic Animals and of other Coccidia of Cats and Dogs.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 169, 1061-1078
- Dubey, J.P., R.H. Streitl, P.C. Stromberg, M.J. Toussant (1977): *Sarcocystis fayeri* sp. n. from the horse.
J. Parasit. 63, 443-446
- Erber, M. (1977): Möglichkeiten des Nachweises und der Differenzierung von zwei *Sarcocystis*-Arten des Schweines.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 480-482

- Fayer, R. (1970): Sarcocystis: Development in cultured avian and mammalian cells.
Science 168, 1104-1105
- Fayer, R. (1972): Gametogony of Sarcocystis sp. in cell culture.
Science 175, 65-67
- Fayer, R. (1974): Development of Sarcocystis fusiformis in the small intestine of the dog.
J. Parasit. 60, 660-665
- Fayer, R., A.J. Johnson (1973): Development of Sarcocystis fusiformis in calves infected with sporocysts from dogs.
J. Parasit. 59, 1135-1137
- Fayer, R., A.J. Johnson (1974): Sarcocystis fusiformis: Development of cysts in calves infected with sporocysts from dogs.
Proc. Helminth. Soc.Wash. 41, 105-108
- Fischle, B. (1973): Untersuchungen über die Möglichkeit einer Sporozystenausscheidung bei Katze und Hund nach Verfütterung von Sarcocystis tenella- und Sarcocystis fusiformis-Sporozysten.
Vet.Med. Diss. FU Berlin
- Gavin, M.A., T. Wanko, L. Jacobs (1962): Electron microscope studies on reproducing and interkinetic Toxoplasma.
J. Protozool. 9, 222-234

- Gestrich, R., A.-O. Heydorn, N. Baysu (1975): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien: VI. Untersuchungen zur Artendifferenzierung bei *Sarcocystis fusiformis* und *Sarcocystis tenella*.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 88, 191-197, 201-204
- Gestrich, R., H. Mehlhorn, A.-O. Heydorn (1975): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten der großen Form von *Isospora bigemina* der Katze.
Zbl.Bakt.Hyg.I.Abt.Orig.A 233, 261-276
- Göbel, E. (1976): Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Feinstruktur der Zystenstadien von Pferdesarkosporidien (*Sarcocystis equicanis*).
Z. Parasitenk. 50, 201
- Heydorn, A.-O., M. Rommel (1972 a): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. II. Hund und Katze als Überträger der Sarkosporidien des Rindes.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 85, 121-123
- Heydorn, A.-O., M. Rommel (1972 b): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien IV. Entwicklungsstadien von *S. fusiformis* in der Dünndarmschleimhaut der Katze.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 85, 333-336
- Heydorn, A.-O., H. Mehlhorn, R. Gestrich (1975 a): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten von *Isospora hominis* Railliet et Lucet, 1891. 2. Feinstruktur der Merozoiten.
Zbl.Bakt.Hyg.I.Abt.Orig.A 232, 373-391

- Heydorn, A.-O., H. Mehlhorn, R. Gestrich (1975 b): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten der großen Form von *Isospora bigemina* des Hundes. 2. Die Feinstruktur der Cystenstadien.
Zbl.Bakt.Hyg.I.Abt.Orig.A 233, 123-137
- Heydorn, A.-O., R. Gestrich (1976): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. VII. Entwicklungsstadien von *Sarcocystis ovis* im Schaf.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 89, 1-5
- Holz, J. (1954): Über die Morphologie der *Sarcocystis tenella*.
Mh. Tierheilk. 6, 166-172
- Janitschke, K., D. Protz, H. Werner (1976): Beitrag zum Entwicklungszyklus von Sarkosporidien der Grantgazelle (*Gazella granti*).
Z. Parasitenk. 48, 215-219
- Kan, S.P., A. S. Dissanaik (1976): Ultrastructure of *Sarcocystis booliati* Dissanaik and Poopalachelvam, 1975 from the moonrat, *Echinosorex gymnurus*, in Malaysia.
Int. J. Parasit. 6, 321-326
- Ludvik, J. (1956): Vergleichende elektronenoptische Untersuchungen an *Toxoplasma gondii* und *Sarcocystis tenella*.
Zbl. Bakt. Abt. I.Orig. 166, 60-65

- Ludvik, J. (1958): Elektronenoptische Befunde zur Morphologie der Sarcosporidien (*Sarcocystis tenella* Railliet 1886).
Zbl.Bakt.Abt.I.Orig. 172, 330-350
- Ludvik, J. (1960): The electron microscopy of *Sarcocystis miescheriana* Kuhn 1865.
J. Protozool. 7, 128-135
- Mahrt, J.L. (1967): Endogenous stages of the life cycle of *Iso-spora rivolta* in the dog.
J. Protozool. 14, 754-759
- Mehlhorn, H., E. Scholtyseck (1973): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cystenstadien von *Sarcocystis tenella* aus der Oesophagus-Muskulatur des Schafes.
Z. Parasitenk. 41, 291-310
- Mehlhorn, H., A.-O. Heydorn, R. Gestrich (1975a): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von Cysten von *Sarcocystis ovicanis* Heydorn et al. (1975) in der Muskulatur von Schafen.
Z. Parasitenk. 48, 83-93
- Mehlhorn, H., A.-O. Heydorn, R. Gestrich (1975b): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten der großen Form von *Isospora bigemina* des Hundes.
I. Zur Entstehung der Cyste und der "Cystenwand".
Zbl. Bakt.Hyg.I.Abt.Orig. A 232, 392-409

- Mehlhorn, H., A.-O. Heydorn, R. Gestrich (1975c): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Cysten von *Sarcocystis fusiformis* in der Muskulatur von Kälbern nach experimenteller Infektion mit Oocysten und Sporocysten von *Isospora hominis* Railliet et Lucet. 1891.
I. Zur Entstehung der Cyste und der Cystenwand.
Zbl.Bakt.Hyg.I.Abt.Orig.A 231, 301-322
- Mehlhorn, H., W.J. Hartley, A.-O. Heydorn (1976): A comparative ultrastructural study of the cyst wall of 13 *Sarcocystis* species.
Protistologica XII, 451-467
- Mehlhorn, H., A.-O. Heydorn, K. Janitschke (1977): Light and electron microscopical study on sarcocysts from muscles of the Rhesus monkey (*Macaca mulata*), Baboon (*Papio cynocephalus*) and Tamarin (*Saguinus* (= *Oediponida*) *oedipus*)
Z. Parasitenk. 51, 165-178
- Mehlhorn, H., A.-O. Heydorn (1977): Light and Electron Microscopie Studies of *Sarcocystis suis* hominis. 1. The Development of Cysts in Experimentally Infected Pigs
Zbl. Bakt. Hyg.I.Abt.Orig.A 239, 124-139
- Miescher, F. (1843): Über eigenthümliche Schläuche in den Muskeln einer Hausmaus.
Ber.Verh.naturforsch.Gesell.Basel 5, 198-203
- Munday, B.L., J.K. Barker, M.D. Richard (1975): The developmental cycle of a species of *sarcocystis* occurring in dogs and sheep with observation on pathogenicity in the intermediate host.
Z. Parasitk. 46, 111-123

Nieberle, K., P. Cohrs (1970): Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.

Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 5. Auflage

Pallaske, G. (1960): Pathologische Histologie

VEB Gustav Fischer Verlag Jena. 2. Auflage

Rommel, M., A.-O.Heydorn, F. Gruber (1972): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. I. Die Sporozyste von *S. tenella* in den Fäzes der Katze.

Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 85, 101-105

Rommel, M., A.-O.Heydorn (1972): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. III. *Isospora hominis* (Railliet und Lucet, 1891) Weynon, 1923, eine Dauerform der Sarkosporidien des Rindes und des Schweines.

Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 85, 143-145

Rommel, M., A.-O.Heydorn (1974): Neue Erkenntnisse zur Epidemiologie der Sarkosporidiose bei Mensch und Tier.

Fortschritte der Veterinärmedizin 20, 104-106

Rommel, M., A.-O.Heydorn, B. Fischle, R. Gestrich (1974): Beiträge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. V. Weitere Endwirte der Sarkosporidien von Rind, Schaf und Schwein und die Bedeutung des Zwischenwirtes für die Verbreitung dieser Parasitose.

Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 87, 392-396

Rommel, M., O. Geisel (1975): Untersuchungen über die Verbreitung und den Lebenszyklus einer Sarkosporidienart des Pferdes (*Sarcocystis equicani* n.spec.).

Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 88, 468-471

- Ruiz, A., J.K. Frenkel (1976): Recognition of Cystic transmission of *Sarcocystis muris* by cats.
J.Infect.Dis. 133, 409-418
- Rzepczyk. Chr., E. Scholtyseck (1976): Light and electron microscope studies on the *Sarcocystis* of *rattus fuscipes*, an Australien rat.
Z. Parasitenk. 50, 137-150
- Scholtyseck, E., H. Mehlhorn, U. Friedhoff (1970): The fine structure of the conoid of Sporozoa and related organism.
Z. Parasitenk. 34, 68-94
- Scholtyseck, E., H. Mehlhorn, B.E.G. Müller (1973): Identifikation der vier cystenbildenden Coccidien (*Sarcocystis*, *Toxoplasma*, *Besnoitia*, *Frenkelia*) auf Grund feinstruktureller Kriterien.
Z. Parasitenk. 42, 185-206
- Scholtyseck, E., H. Mehlhorn, B.E.G. Müller (1974): Feinstruktur der Cyste und Cystenwand von *Sarcocystis tenella*, *Besnoitia jellisoni*, *Frenkelia* sp. und *Toxoplasma gondii*.
J. Protozool. 21, 284-294
- Senaud, J. (1965): Ultrastructure comparee des endodyocytes de *Sarcocystis tenella* et de *Toxoplasma gondii*.
Aus Excerpta Medica 91, 188-189
- Shah, H.L. (1971): The life cycle of *Isospora felis* Weynon, 1923, a coccidium of the cat.
J. Protozool. 18, 13-17

- Sheffield, H.G., J.K. Frenkel, A. Ruiz (1977): Ultrastructure of the cyst of *sarcocystis muris*.
J. Parasit. 63, 629-641
- Simpson, Ch.F. (1966): Electron microscopy of *Sarcocystis fusiformis*.
J. Parasit. 52, 607-613
- Zeve, V.H., D.L. Price, C.M. Herman (1966): Electron microscope study of *Sarcocystis* sp.
Expl Parasit. 18, 338-346
- van der Zypen, E., G. Piekarski (1967): Die Endodyogenie bei *Toxoplasma gondii*.
Z. Parasitenk. 29, 15-35

Lebenslauf

Am 13. Februar 1951 wurde ich als Sohn des Tierarztes Dr. Paul Katz und seiner Ehefrau Martha, geb. Nething in Stuttgart-Bad-Cannstatt geboren.

In Herrenberg besuchte ich in den Jahren von 1958-1962 die Volksschule und wechselte anschließend auf das dortige Schickhardt-Gymnasium und legte 1970 die Reifeprüfung ab.

Nach Ableistung meines Grundwehrdienstes begann ich im Wintersemester 1971/72 das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Im Sommersemester 1976 schloß ich hier mein Studium mit dem Staatsexamen ab.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die mir gewährte Arbeitsmöglichkeit im Institut.

Bei Herrn Dr. E. Göbel möchte ich mich recht herzlich für seine wertvollen Anregungen und seine stets gewährte Anleitung bei der Anfertigung meiner Arbeit bedanken.

Frau H. Meyer danke ich für ihre Unterstützung in allen technischen Fragen.

